

KLEITON LUIZ MACHADO FERREIRA

**EFEITO DA ALTERAÇÃO DO pH da ÁGUA NA
MORFOLOGIA RENAL DO PEIXE ANTÁRTICO *Notothenia
neglecta* NYBELIN (1951)**

Monografia referente à
aquisição do grau de bacharel em
Ciências Biológicas, entregue ao
Departamento de Biologia Celular,
Setor de Ciências Biológicas da
Universidade Federal do Paraná.
Orientadora a Prof^a. Dr^a. Edith Fanta.

CURITIBA

2003

*“Homem, conhece a ti
mesmo e conhecerá os
homens, o Universo e os
Deuses”*

(Frase escrita no Templo
de Delphos)

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente à João, Elza e Karla, ou simplesmente pai, mãe e irmã, sem os quais eu não poderia estar escrevendo isto hoje. Saibam que agradeço tudo o que vocês fizeram por mim até hoje. Eu amo vocês!

Aos meus amigos que moram no meu prédio: Cleber, Lino, Leandro, Luis, Fellipe, Anderson, Lucas, Tiago, Carolina, Pedro, Juliano e Tatiana. Por todo este tempo que nos conhecemos e por todas as horas que passamos juntos!

Aos amigos Sandro, Bruno e Chico, por este tempo que passamos juntos desde nosso 2º Grau no Colégio Barddal e por tudo o que vocês significam para mim!

Aos meus também amigos da faculdade (Viu, Silvana e Paola?) por serem meus “irmãos mais velhos”, e sempre estarem presentes, nas horas alegres e tristes. Aí vão eles: Rafael Etto, André, Gilson, Gustavo, Rafael Noletto, José Maurício, Loli, Silvana, Paola, Fernanda, Luciana, Thaís, Cynthia, Naiana, Liana e Juliana.

À Professora Edith Fanta que orientou-me neste projeto.

À Professora Lucélia Donatti, pelas dicas e trocas de idéias sempre estimulantes e reflexivas!

Ao pessoal que ainda pertence ou pertenceu ao Grupo de Estudos de Impacto Ambiental, Michele, Eloísa, Cássia, Gisele, Wagner, Tânia e Pedro, pelas ajudas em horas de estágio ou fora dele...

Ao CNPq e Programa Antártico Brasileiro pela oportunidade e pela colaboração financeira.

SUMÁRIO

RESUMO	
1. INTRODUÇÃO	02
2. OBJETIVOS	14
3. MATERIAIS E MÉTODOS	
3.1. ÁREA DE ESTUDO	15
3.2. LOCAL DOS EXPERIMENTOS	15
3.3. MATERIAL BIOLÓGICO	16
3.4. COLETA	16
3.5. ACLIMATAÇÃO E MANUTENÇÃO	17
3.6. PROCESSAMENTO HISTOLÓGICO	
3.6.1. SACRIFÍCIO DE ANIMAIS	18
3.6.2. FIXAÇÃO	18
3.6.3. INCLUSÃO	18
3.6.4. MICROTOMIA	19
3.7. COLORAÇÃO	19
3.8. ANÁLISE	19
4. RESULTADOS	21
5. DISCUSSÃO	25
6. CONCLUSÃO	28
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	29

RESUMO

O principal ponto da discussão sobre a acidificação e a basidificação é o devastador efeito que estes fenômenos causam nas populações de peixes em geral. O impacto da acidificação pode levar a efeitos sérios e algumas vezes à extrema degradação dos ecossistemas aquático e terrestre. Já o efeito de águas básicas em rim de peixes as informações na literatura são escassas. Este estudo visa analisar o efeito da variação drástica do pH da água do mar e suas conseqüências no rim do peixe antártico *Notothenia neglecta*. Este experimento foi realizado na Estação Comandante Ferraz, Ilha do Rei George, Antártica. Os exemplares de *N. neglecta* foram coletados em água com pH próximo à 7,7, sendo este o pH controle do experimento. Para analisar as conseqüências da variação do pH sobre esta espécie, alguns exemplares foram submetidos à acidificação através da adição de HCl à água até ser atingido o pH ácido experimental de 5,6 e outros exemplares foram submetidos à alcalinização através da adição de NaOH à água até ser atingido o pH experimental de 9,5. A coleta do material deu-se nos tempos 0,1,2,4,8,12,16 e 24 horas após a adição de HCl e de NaOH. Os animais foram sacrificados, ocorrendo a fixação dos rins em Líquido de Bouin. Os rins foram incluídos em procedimento padrão para microscopia óptica e as lâminas foram coradas com Hematoxilina-Eosina, e Alcian Blue pH 2,5. Como principais conseqüências desta variação de pH, observou-se que em ambos os pHs os túbulos renais de *N. neglecta* não sofreram alterações morfológicas significativas. Foi observado espaços intercelulares nos túbulos principais e nos túbulos intermediários, núcleo central e alongado, redução do citoplasma dos túbulos alterados, presença de células com maior afinidade por hematoxilina, podendo ocorrer células globosas, necrose das células do epitélio tubular e a presença de células do sistema imunológico.

1. INTRODUÇÃO

1.10 pH

O impacto da precipitação ácida reflete em más conseqüências, as quais podem levar a efeitos sérios e algumas vezes à extrema degradação dos ecossistemas aquático e terrestre (GORHAM,1976). Efeitos biológicos de acidificação pela precipitação ácida tem sido observadas e reportadas. (SCHOFIELD,1976).

No final da década de 40 e através da década de 50 uma completa rede europeia de pesquisa foi montada para o estudo químico das precipitações ácidas. (EMANUELSSON *et al.* 1954, ROSSBY e EGNER, 1955 *apud* GORHAM,1976), que haviam aumentado rapidamente após a Segunda Guerra Mundial (Air Pollution Across National Boundaries, 1971 *apud* GORHRAM, 1976).

A dispersão de forte precipitação ácida em longínquos pontos além das zonas urbanas e industriais de ar poluído foi mostrado primeiro no trabalho de BARRETT e BRODIN, 1955 *apud* GORHRAM,(1976). Ao mesmo tempo, as precipitações ácidas em muitas cidades foram documentadas exaustivamente (PARKER, 1955 *apud* GORHRAM,1976).

Evidências convincentes do decréscimo de pH nas águas doces e salgadas durante a década recente existem em todo o mundo (MUIR & ROBERTS,1988).

Uma grande pesquisa é atualmente dirigida aos efeitos da chuva ácida nos peixes, principalmente em razão dos problemas das chuvas ácidas na Escandinávia, USA e Canadá (BROWN *et al.*,1981).

O principal ponto da discussão para considerarmos a acidificação pela precipitação ácida é o devastador efeito que este fenômeno causa nas populações de peixes (SCHOFIELD,1976).

Efeitos da precipitação ácida sobre peixes, zooplankton, bentos, fitoplankton e macrófitos aquáticos tem sido observados na Escandinávia,

onde a fonte de acidez é geralmente a poluição aérea proveniente das grandes áreas urbanas da Europa (ALMER *et al.* 1974, GRAHN *et al.* 1974, JENSEN e SNEKVIK 1972, WRIGHT, 1976 *apud* GORHAM, 1976).

Além dos óbvios impactos nas condições econômicas e sociais, a extinção de populações de peixes tem alcançado implicações ecológicas, pois as reduções nas espécies de peixes afetam a estrutura e funcionamento dos ecossistemas aquáticos (SCHOFIELD, 1976).

Vários tipos em peixes já foram testados em pHs diferentes daqueles em que vivem, mas o valor letal preciso irá variar de acordo com cada espécie, tamanho, fatores físicos, como temperatura, sazonalidade e fatores químicos como concentração de vários íons (BROWN, 1981). As contribuições relativas destes processos de acidificação à água são importantes para se entender os processos envolvidos (MUIR, 1988).

Pela definição, o pH descreve o equilíbrio entre os cátions hidrogênio (com carga positiva) e ânions hidroxílicos (com carga negativa), $\text{H}_2\text{O} (1) - \text{H}^+ (\text{aq}) + \text{OH}^- (\text{aq})$ e é definido por $\text{pH} = -\log_{10} [\text{H}^+]$ (MUIR, 1988).

A água pura é composta por partes de concentrações equimolares de hidrogênio e hidroxilas sendo neutra, com $\text{pH} = 7.0$ (MUIR, 1988). A acidificação ocorre na desregulação na concentração de hidroxilas/íons de hidrogênio, tendendo a favor dos íons hidrogênio (MUIR, 1988).

Na natureza a causa mais comum desta acidez é a precipitação ácida (JENSEN e SNEKVIK, 1972 *apud* MUIR, 1988), mas esta não é o único agente possível, pois a acidificação pós-glacial natural (PENNINGTON, 1984 *apud* MUIR, 1988) pode também ser significativa.

A basidificação é uma diferença na concentração de hidroxilas/íons de hidrogênio, tendendo a favor das hidroxilas (MUIR, 1988).

O pH do vapor da água destilada que está em equilíbrio no ar, é de 6.5 (KINNAIRD & NICHOLSON, 1982 *apud* MUIR, 1988) e portanto a chuva é naturalmente ácida, embora o pH da precipitação dependa da interferência do pó de carbonato de cálcio atmosférico, o qual é alcalino (NORTON, 1982 *apud* MUIR, 1988).

O termo chuva ácida pode ser definido como uma chuva “mais ácida” que a água que está em equilíbrio com concentrações atmosféricas de dióxido de carbono (FOWLER *et al.*, 1982 *apud* MUIR, 1988)

O termo “chuva ácida” foi primeiramente usado por SMITH (1872) em uma publicação intitulada: “Ar e Chuva: Os Inícios da Climatologia Química” (“Air and rain: the beginnings of chemical climatology”). SMITH descreveu a chuva que ocorria em Manchester. Ele então percebeu variações regionais na precipitação química influenciada pela queima de carvão, decomposição de matéria orgânica, direção dos ventos, proximidade do mar e pelo volume de água das chuvas. Dados também foram adquiridos dos prejuízos das plantas e materiais e na deposição de metais na atmosfera (MUIR, 1988).

O termo chuva ácida é hoje coloquialmente empregado para denotar a precipitação de não apenas os íons hidrogênio ($H^+_{(aq)}$), mas também de ânions acidificados, como os sulfatos ($SO^{2-}_{4(aq)}$), nitratos ($NO^{3-}_{(aq)}$), amônia ($NH^{4+}_{(aq)}$) e micropoluentes orgânicos (CROWTHER e RUSTON 1911, LAZERT e DILLION, 1984 *apud* MUIR, 1988), os quais são resultado da incompleta combustão de produtos de carvão, óleos e outros combustíveis orgânicos (MUIR, 1988).

Entretanto, o termo chuva é incompleto, pois os poluentes podem depositar-se nas superfícies através de várias formas, por diversos processos, dentro de um grupo geral de deposições secas e úmidas (MUIR, 1988).

Excetuando a poluição direta, seja por lixo sólidos ou líquidos, a acidez na superfície das águas deve ser originada de processos químicos e biológicos dentro da zona de contágio de onde a água é coletada (MUIR, 1988).

Os principais fatores que contribuem para a acidez na precipitação são a redução de óxidos sulfurosos e nitrosos pela água, resultando em ácidos sulfúrico e nítrico, os quais se dissociam para liberar íons hidrogênio (MUIR, 1988).

Ecologicamente, os efeitos negativos da poluição do ar são muitos, e têm sido foco principalmente os gases poluentes como SO_2 , O_3 e óxidos de nitrogênio, os quais afetam os ecossistemas ecológicos (WEBSTER 1967, HINDAWI 1970, TAMM e ARONSSON 1972, FERRY *et al.* 1973, SMITH 1974, **apud** GORHAM, 1976).

Toxinas orgânicas também acompanham a precipitação ácida. Um fator de particular importância nos ecossistemas aquáticos é a rapidez com a qual toxinas podem ser adicionadas durante o degelo da primavera (Air Pollution Across National Boundaries, 1971 **apud** GORHAM, 1976).

Outros poluentes possuem grande importância para os ecossistemas aquáticos, principalmente dentre eles os íons H da precipitação ácida, e os elementos provenientes das zonas urbanas e fontes industriais (como por exemplo: Cu, Zn, Pb, Ni, As entre outros) (GORHAM, 1976).

A adição de íons H^+ , como H_2SO_4 , HNO_3 e HCl podem alterar as composições das comunidades bióticas (GORHRAM, 1976).

Em outra instância, a precipitação ácida usualmente é enriquecida com nutrientes das plantas como nitrato, amônia, K, Ca, S as quais em até certas concentrações estas combinações devem também ser benéficas (GORHRAM, 1976).

Entre estes ácidos fortes, predomina o H_2SO_4 , com uma forte correlação evidente entre íons H e os íons sulfato (GORHAM, 1955, 1958 a **apud** GORHAM, 1976)

O H_2SO_4 origina-se primeiramente da oxidação do enxofre em combustíveis fósseis o qual é entre 1 e 3% em 56% das minas de carvão dos EUA, acima de 3% em mais de 30% no resto dos casos deve exceder os 6% (PERRY, 1976 **apud** GORHAM, 1976).

Localmente, os gases processados pelas plantas podem emitir enxofre suficiente para que possa ocorrer um impacto significativo sobre a concentração de enxofre e acidez na precipitação (SUMMERS e HITCHON, 1973; SUMMERS e WHELPDALE, 1976 **apud** GORHAM, 1976).

Se os catalisadores designados para reduzir as emissões de gases irão aumentar as concentrações de H_2SO_4 nas áreas urbanas é uma questão a ser discutida (HOLDEN, 1975 *apud* GORHAM, 1976). Entretanto a emissão natural e biológica de enxofre é estimada ser muito grande, mas ainda assim elas não devem ser a maior causa da produção das chuvas ácidas e deve estar presumido que a maioria delas tem estado em equilíbrio com fontes naturais de bases neutralizadoras (GORHAM, 1976).

Óxidos de nitrogênio (NO e NO_2) podem também contribuir significativamente para a acidez das precipitações. Eles provêm da oxidação do nitrogênio orgânico em combustíveis fósseis. A fixação térmica do gás N_2 também ocorre durante o processo de combustão no ar, o qual ocorre a altas temperaturas. Aproximadamente de 5 a 40 % do nitrogênio presente em carvão e de 20 a 100% do nitrogênio presente no óleo é oxidado por combustão, sendo oxidado mais ainda em presença do vapor d'água, tornando-se HNO_3 (ANON., 1975, capítulo 14 *apud* GORHAM, 1976). A maior emissão de óxidos de nitrogênio nas cidades provém do carvão e do petróleo (GORHAM, 1976).

O HCl é o terceiro componente das fortes precipitações ácidas. Foi notado particularmente em regiões urbanas na Grã Bretanha (GORHAM, 1958b *apud* GORHAM, 1976), onde a concentração do HCl era maior que a concentração de H_2SO_4 . As emissões de ácido clorídrico pela atividade vulcânica são menores que as emissões de SO_2 (CADLE, 1975 *apud* GORHAM, 1976).

Em adição com os ácidos fortes, os ácidos fracos podem também ser encontrados na precipitação mas aparentam não contribuir significativamente para os íons livres de H (GORHAM, 1976).

A deposição via úmida ocorre através de precipitações, como chuva, neve, granizo, neblina e nevoeiro (MUIR, 1988).

Uma pesquisa sobre chuvas no norte da Grã Bretanha estimou que o ácido nítrico contribuía, em média, com 29 por cento para a acidez, e que 71 por cento era contribuído pelo ácido sulfúrico (FOWLER *et al.*, 1982 *apud*

MUIR,1988). Entretanto o HCl (ácido clorídrico) também pode contribuir para a acidez em certas áreas industriais (FOWLER *et al.*, 1982 *apud* MUIR,1988).

Uma sugestão das causas da morte de peixes em chuvas ácidas é a falha em regular sua concentração iônica interna (BROWN,1981).

A primeira manifestação morfofisiológica da queda da qualidade da água é geralmente uma mudança as estruturas branquiais (DAYE e GARSIDE, 1976 *apud* MUIR,1988).

Este dano que ocorre nas brânquias deve ser uma resposta celular para a deficiência da iono-osmoregulação e função respiratória na superfície das brânquias. A hipertrofia resume na perda da integridade da membrana e a hiperplasia das células é uma resposta adaptativa do peixe para esta perda (MUIR,1988).Em pHs extremamente baixos, ou seja, menor do que 3, ocorre a coagulação de muco nas superfícies branquiais e subseqüente anoxia (ROBINSON, G.C.; DUNSON, W.A.; WRIGHT, J.E.; MAMOLITO, G.E. *apud* SCHOFIELD,1976) o que pode ser a causa principal da mortalidade de peixes. Entretanto estes baixos níveis de pH são raramente encontrados nos lagos ácidos (SCHOFIELD,1976).

Os mecanismos morfofisiológicos envolvidos na mortalidade de peixes variam em resposta a diferentes níveis de acidez e a presença de compostos sinérgicos, como CO₂ e metais pesados (SCHOFIELD,1976).

Em pHs menos ácidos,que variam de 4 a 5, encontramos alterações no equilíbrio ácido-base, que são a principal causa de mortalidade (SCHOFIELD, 1976).

Ácidos e bases fortes em altas concentrações produzem destruição geral em todas as células vivas, provavelmente porque ocasionam uma precipitação ed proteínas, com a conseqüente desnaturação destas e rompimento da integridade das membranas celulares. Esta ação não específica é induzida por soluções concentradas de todos os produtos cáusticos ou corrosivos e envolve destruição parcial ou completa de todas as partes das células vivas (LOOMIS, 1996).

Em um levantamento feito através das Expedições Antárticas de anos anteriores, verificou-se uma significativa variação de pH nas medições ambientais feitas na Península Antártica, como mostra a tabela 1.

Data	Local	PH
30/01/84	Estação Polonesa	9,58
17/02/84	Estação Polonesa	10,63
20/02/84	Estação Polonesa	10,95
04/02/85	Estação Brasileira	8,05
30/12/85	Estação Brasileira	9,30
15/01/86	Estação Brasileira	11,50
22/01/90	Estação Brasileira	6,00
27/01/91	Estação Brasileira	2,91
24/12/91	Estação Brasileira	7,59
05/01/93	Estação Brasileira	8,59

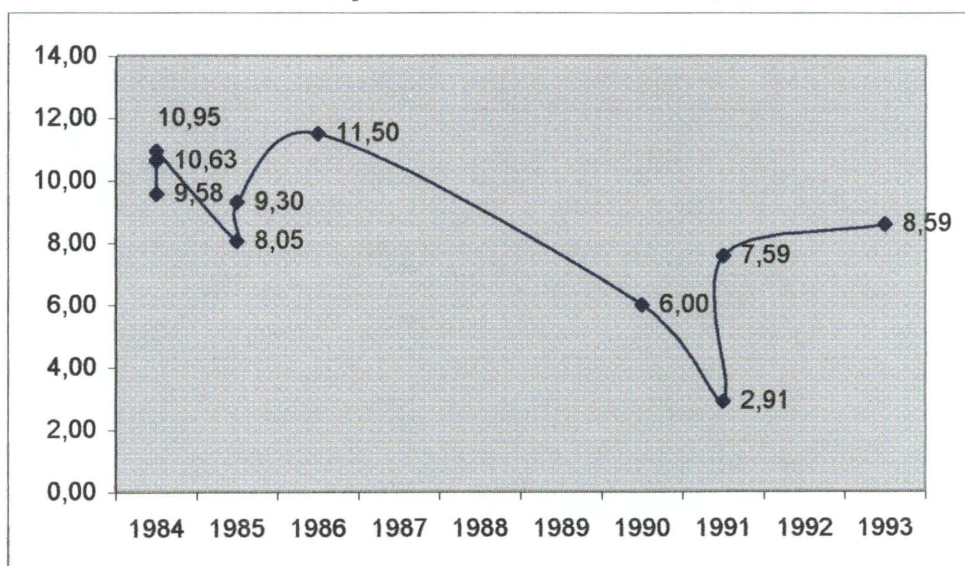


Tabela 1 – Variação de pH através dos anos na Baía do Almirantado.

1.2 O RIM

Os rins dos vertebrados apresentam três regiões estruturais básicas: uma seção proximal fechada, na qual entra o líquido do corpo produzido por ultrafiltração livre de proteínas; um túbulo com circunvoluções, no qual se modifica a concentração salina e de água do filtrado, e por fim um órgão de armazenamento em seu extremo distal, o qual se abre para superfície exterior do corpo (PHILLIPS, 1976).

Em teleósteos de água doce a principal função dos rins é excretar a grande quantidade de água que entra no corpo do peixe (HICKMAN e TRUMP, 1969; HIBIYA, 1982). A urina dos peixes de água doce é abundante e com baixa concentração de eletrólitos (HIBIYA, 1982). Em contraste, em teleósteos marinhos há uma constante tendência à perda de água. Há a necessidade de retenção de água, sendo reduzido o volume de urina produzido (HIBIYA, 1982).

O rim dos teleósteos ocupa uma posição dorsal retroperitoneal, ao longo da maior parte do comprimento da cavidade do corpo (LIMA, *et al.*, 1993). A forma externa dos rins é, ainda variável de acordo com a espécie. Os rins dos teleósteos consistem em rim cefálico ("head kidney") e rim de tronco ("trunk kidney") (HIBIYA, 1982), ou também denominado de região anterior ou cranial e região posterior, respectivamente, ou ainda mesonefro, opistonefro ou rim excretor (LIMA *et al.*, 1993).

Em alguns peixes é possível distinguir os dois rins, porém esta separação pode não estar presente. A região anterior do rim consiste de tecido linfóide. O rim tronco é composto por inúmeros néfrons e tecido intersticial linfóide (HICKMAN e TRUMP, 1969; HIBIYA, 1982).

Os teleósteos que não apresentam glomérulo são chamados aglomerulares e são descritos por muitos autores tanto em ambiente marinho (HICKMAN e TRUMP, 1969; DOBBS *et al.*, 1974; DOBBS e DeVRIES, 1975; DOBBS *et al.*, 1975; HIBIYA, 1982; OGURI, 1989) quanto em ambiente de água doce (HICKMAN e TRUMP, 1969). Representam os teleósteos com

maior grau de especialização renal, nos quais somente dois dos segmentos dos néfrons são capazes de cumprir com eficiência a remoção de magnésio e sulfatos (HICKMAN e TRUMP, 1969). Entre os peixes antárticos estudados, a maioria apresenta a característica de aglomerulismo (DOBBS *et al.*, 1974; DOBBS e DeVRIES, 1975; DOBBS *et al.*, 1975; OGAWA e FUKUCHI, 1988). A ausência de glomérulos nestes peixes tem sido relacionada com a conservação de moléculas glicoprotéicas anti-congelantes (DOBBS *et al.*, 1974; EASTMAN *et al.*, 1979; EASTMAN, 1993).

A produção de urina nos peixes aglomerulares não envolve filtração glomerular, mas sim secreção tubular (HICKMAN e TRUMP, 1969; DOBBS e DeVRIES, 1975; EVANS, 1993). Os túbulos renais de peixes aglomerulares consistem primariamente do segmento proximal II, o qual é secretor de magnésio e sulfatos (HICKMAN e TRUMP, 1969). Os túbulos renais de peixes antárticos secretam magnésio e cálcio contra um gradiente de concentração, prevenindo a excreção renal de significativas concentrações de sódio e potássio (DOBBS e DeVRIES, 1975). Em testes realizados com néfrons aglomerulares isolados, há indicações de que nem todos os néfrons apresentam atividade de secreção. Foi sugerida a presença de cotransporte $\text{Na}^+/\text{K}^+/\text{2Cl}^-$ na membrana basolateral das células epiteliais proximais, causando um acúmulo de cloro dentro da célula, que é posteriormente excretado pela membrana apical devido a uma diferença de potencial eletroquímico, tal como proposto para as células de cloreto branquiais (ZADUNAISKY, 1996). O sódio é secretado por um caminho paracelular devido a um acoplamento elétrico criado através da passagem transcelular de cloro. Propõe-se que tal mecanismo seja utilizado para dirigir a secreção fluida para dentro do túbulo (BEYENBACH, 1995).

O magnésio é secretado no túbulo contra um potencial eletroquímico, sendo encontrado em maior concentração na luz do túbulo do que na região peritubular. Desta forma, o magnésio do túbulo exerce uma pressão osmótica retirando água do meio peritubular para o lúmen, gerando secreção de fluido (BEYENBACH, 1995). Um aumento da concentração de magnésio na região

peritubular causa um aumento na taxa de produção urinária e parece existir uma relação direta entre a secreção de magnésio e a reabsorção de sódio em túbulos renais do peixe aglomerular *Lophius piscatorius* (BEYENBACH e KIRSCHNER, 1975; MARSHALL, 1995).

O suprimento sangüíneo renal dos peixes aglomerulares antárticos é inteiramente venoso (DOBBS *et al.*, 1975; EVANS, 1993). São encontrados muitos capilares peritubulares e ocasionalmente ocorrem sinusóides contendo eritrócitos entre os túbulos renais (DOBBS *et al.*, 1975).

1.3 A ANTÁRTICA

O congelamento e isolamento do Continente Antártico ocorreu há cerca de 38 milhões de anos atrás. A formação do Oceano Antártico e total isolamento do Continente ocorreu há cerca de 25 milhões de anos, quando a passagem de Drake se abriu (EASTMAN,1993) separando este oceano dos demais oceanos através de uma barreira natural denominada Convergência Antártica, localizada entre 50° e 60° de latitude Sul. A Convergência Antártica é caracterizada pelo encontro de águas mais quentes e menos densas dos Oceanos Atlântico, Pacífico e Índico com águas mais densas e mais geladas do Oceano Antártico. Este encontro causa grande movimentação vertical da água (FOSTER,1984; CAPOZOLI,1991; CROSSLEY,1995). O Oceano Antártico é caracterizado por um sistema circumpolar de correntes e frentes hidrográficas que causam um transporte de massa d'água na direção oeste para leste, mas um reduzido grau de troca na coluna d'água acima de 1000 metros de profundidade na direção Norte-Sul (EKAU,1991).

As temperaturas das águas continentais antárticas, bem como das regiões costeiras, usualmente permanecem perto dos 0°C durante todo o ano (EASTMAN, 1991). O regime de luz é característico das regiões polares. No inverno há longos períodos sem luz, enquanto que no verão a luz é praticamente constante, ocorrendo situações intermediárias durante o ano (RIVKIN e PUTT, 1987). As condições de penetração da luz na água do mar podem ser atenuadas pelo gelo e pela neve, podendo então, ser comparadas as condições encontradas nas águas oceânicas profundas de outras partes do mundo (KOCK,1992).

Durante o inverno uma grande parte do Oceano Antártico está recoberto por uma camada de gelo (LUTJEHARMS, 1990). O processo de formação do gelo a partir da água do mar resulta em um aumento da salinidade e densidade da água logo abaixo do gelo, devido à expulsão de cristais de sal para a água do mar. Este aumento de salinidade e densidade induz uma movimentação vertical da água (FOSTER, 1984; EASTMAN, 1993; HEMPEL,

1994) que termina por estabilizar a coluna d'água, na afetando significativamente a salinidade.

Nos últimos anos ocorreram muitas alterações globais, que afetaram o ecossistema antártico. Com o aumento do aquecimento global houve um aumento no derretimento da neve, fazendo com que o Oceano Antártico recebesse um aumento no aporte de água. Esta água provinda do derretimento possui resíduos de rochas, as quais alteram o pH, juntamente com as chuvas ácidas provindas de outros continentes.

2. OBJETIVOS

- Analisar o efeito das acidificações e basidificações da água no rim de *Notothenia neglecta*
- Analisar possíveis compensações morfológicas renais em *Notothenia neglecta* à esta situação de estresse;

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 ÁREA DE ESTUDO

A Ilha do Rei George está situada a oeste da Península Antártica, possui um território de 1.300 Km². A Ilha do Rei George é a maior do arquipélago de Shetlands do Sul, na península Keller.

A Baía do Almirantado é um fiorde com uma área superficial de 122,08 Km², com 24 Km² de volume de água e uma profundidade máxima de 530 m. A temperatura da água varia entre -1,7 a 2,0 °C na superfície e -1,10 a 0,28 °C a 400 m de profundidade. A temperatura média anual na coluna d'água é de - 0,4 °C (KULESZ, 1994)

3.2 LOCAL DOS EXPERIMENTOS

As ações Brasileiras na Antártica são desenvolvidas na Estação Antártica Comandante Ferraz (EACF), instalada na Ilha Rei George.

A EACF conta atualmente com 63 módulos, sendo que um deles está equipado com tanques para triagem e estocagem de animais aquáticos logo após a captura. Existem dois módulos que possuem temperatura controlada a 0 °C, onde estão os aquários para a realização dos bioensaios. Existem também dois módulos de Biologia, com temperatura controlada de 20°C, possibilitando os experimentos dentro das condições desejadas.

A EACF recebe apoio logístico da SECIRM (Secretaria Interministerial para Recursos do Mar), Marinha do Brasil e suporte financeiro do CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico) e do PROANTAR (Programa Antártico Brasileiro).

3.3 MATERIAL BIOLÓGICO

Foi analisado o rim do peixe antártico *Notothenia neglecta*, que a seguinte classificação taxonômica:

Filo: **Chordata**

Subfilo: **Vertebrata**

Classe: **Osteichthyes**

Subclasse: **Actinopterygii**

Infraclasse: **Teleostei**

Ordem: **Perciforme**

Subordem: **Notothenioidei**

Família: **Nototheniidae**

Gêneros: *Notothenia neglecta* NYBELIN, 1951

As características usadas para a identificação dessa espécie foram baseadas nas descrições de FISHER e HUREAU (1985):

3.4. COLETA

As coletas foram realizadas na Península Antártica, Baía do Almirantado, durante a primeira fase do verão antártico entre 28/11 a 14/12 de 2002 na XXI Expedição Brasileira à Antártica.

A captura dos espécimes utilizados no desenvolvimento desta monografia foi realizada através de rede de espera de fundo, do tipo tri-malha “feiticeira” e através de pesca com anzol e linha.

Este método permitiu a captura de espécimes vivos, os quais foram transportados em tambores, contendo água do mar, para os laboratórios de biologia da Estação Antártica Comandante Ferraz.

3.5.ACLIMATAÇÃO E MANUTENÇÃO

Após a coletados animais, estes foram colocados nos tanques do módulo de aquário II da EACF, o qual é mantido a zero grau.

O aquário II da Estação Antártica Comandante Ferraz é dotado de sistema de captação de água do mar e sistema de refrigeração que permite a manutenção dos espécimes em condições abióticas controladas (MEYER, 1995). A temperatura foi de $0,3^{\circ}\text{C}$ ($\pm 0,1^{\circ}\text{C}$), a salinidade 38‰ e o fotoperíodo de 22 h luz e 2 h escuro. Os exemplares da espécie estudada foram transferidos para aquários para recuperação e aclimação.

Na fase experimental, foram usados três tanques por teste, cada um com capacidade de 30 l de água.

Em cada tanque foram colocados oito espécimes de *N. neglecta* NYBELIN, 1951 identificados de acordo com FISCHER e HUREAU (1985).

Este pequeno número de espécimes utilizados deve-se à dificuldade de obter peixes antárticos, já que as condições abióticas antárticas influem muito na obtenção dos exemplares.

O pH inicial e considerado controle (permanecendo o mesmo da natureza) foi de $7,67$ ($\pm 0,1$). Esse valor de pH foi mantido no tanque 1, que era onde ficavam os espécimes controle.

Os tanques 2 e 3 eram os tanques experimentais e neles realizou-se o aumento e o decréscimo de pH, respectivamente. No tanque 2 o pH testado foi de $9,5$ ($\pm 0,1$) e no tanque 3 o pH foi de $5,6$ ($\pm 0,1$). A temperatura e a salinidade permaneceram as mesmas nos dois tanques experimentais.

Outras medidas abióticas realizadas foram a concentração de nitrito (NO_2^-) e amônio (NH_4^+), as quais permaneceram em valores adequados de 0,25 ppm e 0 ppm, respectivamente, nos três tanques. O pH foi ajustado em $9,5$ ($\pm 0,1$) com a dissolução de NaOH e em $5,6$ ($\pm 0,1$) através de gotejamento de HCl (12 N) com o uso de uma pipeta.

O módulo foi mantido num fotoperíodo de 22 horas luz e 2 horas escuro, simulando a luminosidade da natureza durante esta época do ano.

O pH foi observado e mantido constante durante todo o experimento. O tempo de permanência dos animais nos tanques foi de 0h, 1h, 2h, 4h, 8h, 12h, 16h e 24h após o início do experimento.

Após esses tempos de exposição e permanência nos tanques os animais foram sacrificados para a coleta do material biológico para processamento morfológico.

3.6 PROCESSAMENTO HISTOLÓGICO

3.6.1 SACRIFÍCIO DE ANIMAIS

Os animais foram sacrificados após secção medular. O rim foi coletado, sendo lavado em solução salina de Cortland.

3.6.2 FIXAÇÃO

As amostras de rim, após a lavagem, foram fixadas em Líquido de Bouin (CULLING *et al.*, 1985) por um período de 8 à 12 horas. Após o período de fixação, as amostras foram transferidas em etanol 70%, onde foram transportadas ao Brasil para processamento no Laboratório de Impacto Ambiental no Departamento de Biologia Celular – UFPR – Paraná.

3.6.3 INCLUSÃO

As amostras de rim em álcool 70% foram separadas em pequenos pedaços para a inclusão. As amostras foram então submetidas a uma desidratação gradual em série alcoólica crescente. Após isso, foram diafanizadas em xileno e incluídas em Paraplast Plus®, segundo o protocolo de rotina.

3.6.4 MICROTOMIA

Os blocos obtidos foram trimados e cortados em micrótomo para parafina do tipo Wetzlar – Leica. Foram feitos cortes transversais seriados do rim, em uma espessura de 4 μm . Os cortes foram dispostos em lâmina histológica contendo Albumina de Meyer (CULLING *et al.*, 1985) e água, sendo posteriormente distendidos em placa aquecedora.

3.7 COLORAÇÃO

Para descrição geral e análise do rim foi utilizada coloração de rotina Hematoxilina-Eosina (HE) e Alcian Blue pH 2.5. Estas duas colorações permitiram um reconhecimento morfológico e citoquímico das estruturas renais. As glicoproteínas ácidas são reativas ao Alcian Blue pH 2,5. Admite-se diagnóstico diferencial das glicoproteínas sulfatadas e carboxiladas usando-se solutos de Alcian Blue com pHs diferentes. As carboxiladas, somente estas, reagem com soluções acima de 1,7 (MAIA, 1979)

3.8 ANÁLISE

As lâminas histológicas foram analisadas, onde os cortes seriados eram observados em aumento de 40 e 100x. As lâminas foram documentadas em Fotomicroscópio Olympus PM 10AD, pertencente ao Laboratório de Estudos de Impacto Ambiental da Universidade Federal do Paraná. O registro fotográfico foi feito com filmes de 35 mm e ASA100.

4. RESULTADOS

Modificações Focais	pH	T ₀	T ₁	T ₂	T ₄	T ₈	T ₁₂	T ₁₆	T ₂₄
Espaços Intercelulares nos túbulos proximais	5,60	Presente	Ausente	Presente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Presente
	7,70		Presente	Presente	Presente	Ausente	Ausente	Ausente	Presente
	9,50	Presente	Presente	Ausente	Presente	Presente	Ausente	Ausente	Presente
Espaços Intercelulares nos túbulos intermediários	5,60	Presente	Ausente	Ausente	Ausente	Presente	Presente	Ausente	Presente
	7,70		Ausente	Presente	Ausente	Presente	Ausente	Ausente	Presente
	9,50	Presente	Presente	Ausente	Presente	Presente	Presente	Ausente	Presente
Espaços Intercelulares nos túbulos coletores	5,60	Ausente	Ausente	Presente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Presente
	7,70		Ausente	Presente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Presente
	9,50	Presente	Presente	Presente	Presente	Presente	Ausente	Ausente	Presente
Núcleos Centrais	5,60	Presente	Presente	Presente	Presente	Presente	Presente	Presente	Presente
	7,70		Presente	Presente	Presente	Presente	Presente	Presente	Presente
	9,50	Presente	Presente	Presente	Presente	Presente	Presente	Presente	Presente
Núcleos Alongados	5,60	Presente	Presente	Presente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Presente
	7,70		Presente	Presente	Presente	Presente	Presente	Ausente	Presente
	9,50	Presente	Presente	Ausente	Presente	Presente	Ausente	Presente	Presente
Descolamento da membrana basal do túbulo proximal com o epitélio tubular	5,60	Ausente	Presente	Presente	Presente	Ausente	Ausente	Ausente	Presente
	7,70		Presente	Presente	Ausente	Presente	Ausente	Presente	Presente
	9,50	Presente	Presente	Ausente	Ausente	Presente	Ausente	Ausente	Ausente
Descolamento da membrana basal do túbulo intermediário com o epitélio tubular	5,60	Ausente	Presente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Presente
	7,70		Presente	Presente	Ausente	Presente	Ausente	Presente	Presente
	9,50	Presente	Presente	Ausente	Ausente	Presente	Ausente	Ausente	Ausente
Descolamento da membrana basal do túbulo coletor com o epitélio tubular	5,60	Ausente	Presente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Presente
	7,70		Presente	Presente	Ausente	Ausente	Ausente	Presente	Presente
	9,50	Presente	Presente	Ausente	Ausente	Presente	Presente	Ausente	Ausente
Presença de células globosas (Células brancas)	5,60	Presente	Ausente	Presente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Presente
	7,70		Presente	Presente	Presente	Presente	Presente	Ausente	Presente
	9,50	Presente	Ausente	Presente	Presente	Presente	Ausente	Presente	Presente
Presença de células escuras	5,60	Presente	Presente	Presente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Presente
	7,70		Presente	Presente	Presente	Presente	Presente	Ausente	Presente
	9,50	Presente	Presente	Presente	Presente	Presente	Ausente	Presente	Presente

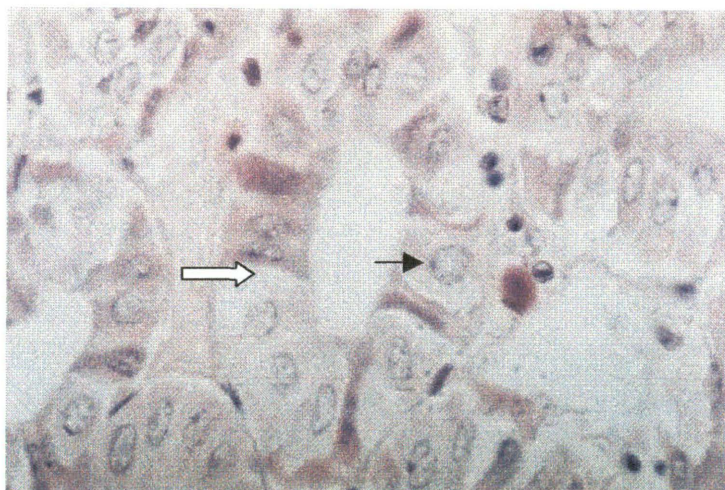


Figura 1 – pH 7,7 – Tempo 1 – Presença de células globosas (→), Espaços Intercelulares (⇨). Coloração HE – 1000x

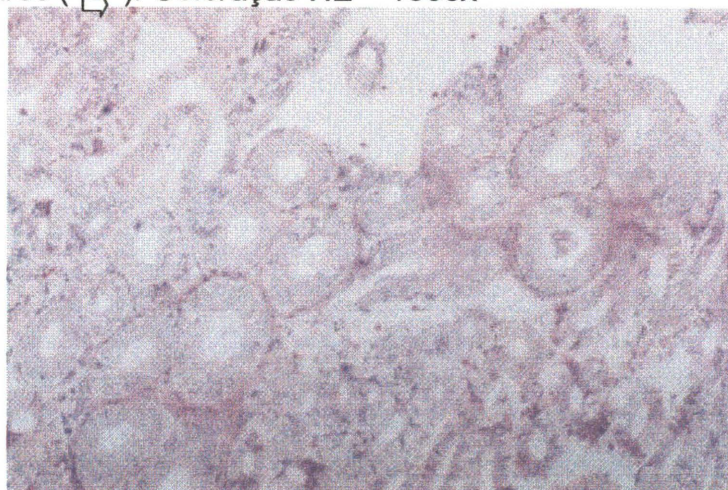


Figura 2 – pH 7,7 – Tempo 1 – Células do tecido epitelial aparentemente sem alterações celulares. Coloração HE – 400x

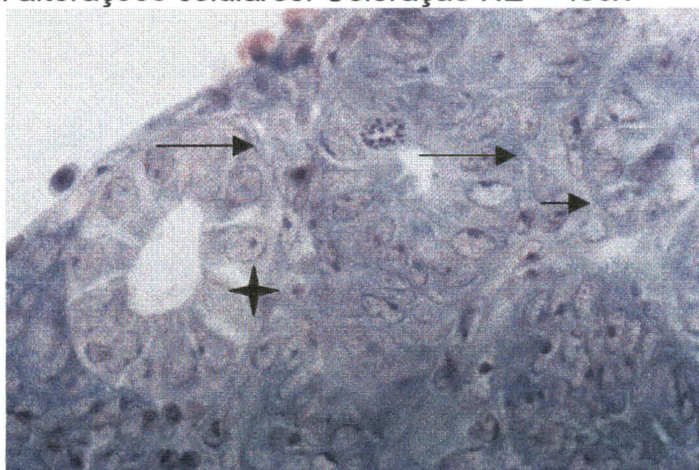


Figura 3 - pH 7,7 – Tempo 8 – Presença de Espaços Intercelulares nas células controle (→). Membrana Basal não descolada do epitélio tubular (→). Coloração HE – 1000x.

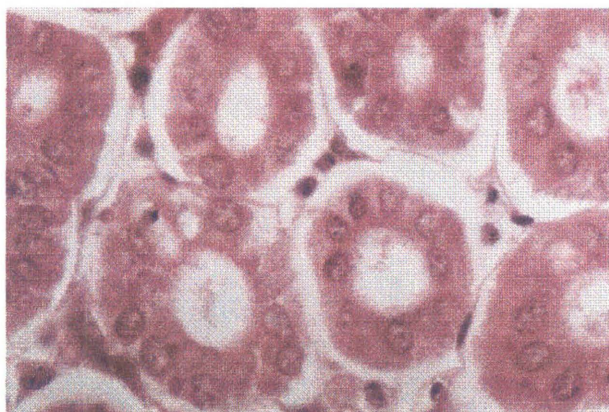


Figura 4 - pH 5,6 – Tempo 4. Presença de Células globosas (►) e descolamento epitelial tubular com a Membrana Basal (⇨). Coloração HE – 1000x

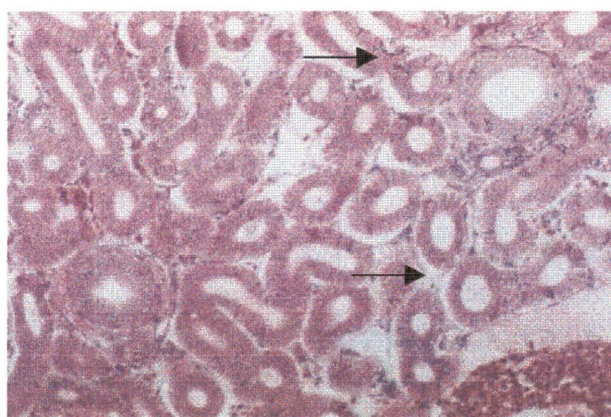


Figura 5 – pH 5,6 – Tempo 12. Presença de túbulos não modificados e com as células epiteliais pouco descoladas da Membrana Basal (➞). HE 1000x.

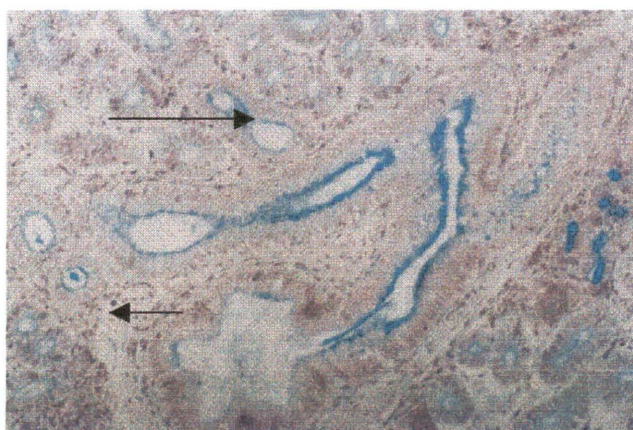


Figura 6 - pH 9,5 – Tempo 4 - Presença de Túbulos Coletores contracolorados fortemente com Alcian Blue pH 2,5 evidenciando presença de mucosubstâncias carboxiladas (➞). Túbulos sem modificações aparentes. Coloração Alcian Blue pH 2,5 – 400x.

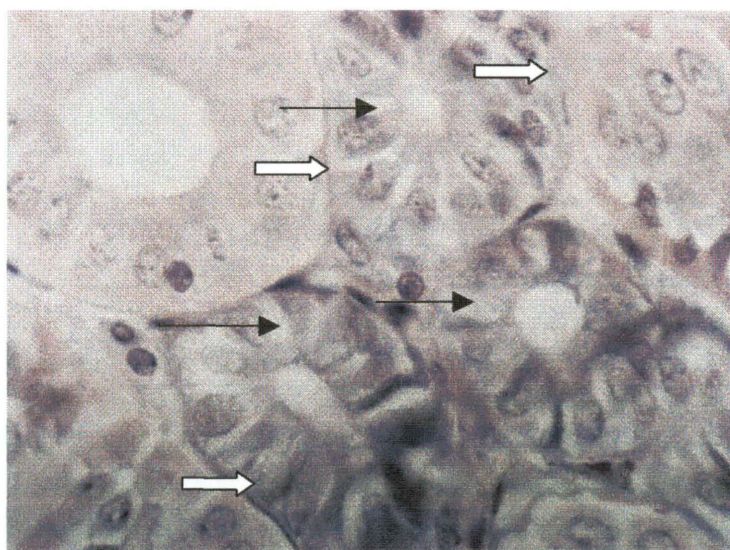


Figura 7 – pH 9,5 – T16 – Presença de Espaços Intercelulares em túbulos intermediários (→), Ausência de descolamento epitelial (⇨). Coloração HE – 1000x

4. DISCUSSÃO

O rim dos teleósteos marinhos tornou-se especializado funcionalmente. estrutura do néfron destas espécies antárticas, o qual não possui características do segmento distal de algumas espécies de peixes de água doce e onde geralmente o glomérulo está degenerado ou ausente. (HICKMAN e TRUMP, 1969). Esta é uma consequência da limitada, mas essencial função que o rim realiza no complexo tipo de regulação hiposmótica, a função específica de excreção de magnésio e sulfato. Estes íons entram no intestino do peixe através da absorção deliberada de água do mar, como um primeiro passo para repor a água perdida exosmoticamente através da superfície corporal. Uma fração pequena de íons divalentes absorvidos, geralmente em torno de menos 20% destes íons, penetram na mucosa intestinal, entrando no sistema circulatório. Há indicações plausíveis de que todo estes íons absorvidos (Magnésio e Sulfato) são excretados unicamente pelo rim (HICKMAN, 1968c). Outros íons, como o Sódio, Potássio e Cálcio são também absorvidos pelo intestino e aparecem na urina, mas o rim não é o único órgão à excretar estes íons (HICKMAN e TRUMP, 1969).

Uma revisão da literatura indica que o aglomerulismo em peixes ocorre em 6 famílias, 13 gêneros e em 23 espécies de teleósteos marinhos. Muitos destes têm sido estudados em microscopia eletrônica. O néfron destes animais consiste em três regiões: Um segmento inicial com bordas em escova, chamado de túbulo proximal, um segmento coletor, denominado de túbulo coletor e um outro segmento entre estes dois túbulos, que é denominado túbulo Intermediário. (GRAFFLIN, 1937).

A dificuldade em obter exemplares, ocasionando um pequeno número de animais foi o fator determinante para que não fosse realizado teste estatístico

neste trabalho. Por este mesmo motivo, foi possível realizar o teste apenas no curto período de 24 horas.

Houve dificuldade também em encontrar literatura recente à respeito de acidez a basicidade na Antártica, principalmente sobre efeitos renais à esta variação abiótica, ocasionando uma revisão sucinta sobre o assunto.

Em trabalhos anteriores e ainda não publicados pelo Laboratório de Impacto Ambiental, foi observado que o néfron das espécies *Lepidonotothen nudifrons* e *Gobionotothen gibberifrons* seguem o padrão acima descrito, onde os néfrons destes animais possuem os túbulos proximais com bordas em escova não alterados em pHs experimentais ácidos de 6.5 e 6.0. Em pHs mais baixos e portanto teoricamente mais agressivos, como no caso do pH 5.5, foi observado que nestas duas espécies ocorrem modificações.

Neste trabalho verificamos que o padrão da morfologia celular dos túbulos renais de *Notothenia neglecta* também segue o padrão acima descrito e que estes túbulos não foram alterados, permanecendo constantes nos dois pHs experimentais (pH 5,6 e pH 9,5) assim como no controle (pH 7,7).

Notothenia neglecta possui uma distribuição Circum-Antártica, ou seja, ela está presente em torno do continente antártico, além de estar presente também na Península Antártica, Geórgia do Sul, Shetlands do Sul, Sandwich do Sul, Orkney do Sul, Ilhas Bouvet e Peter I.

Com base nestes resultados podemos supor que *Notothenia neglecta* está adaptada à estes variados ambientes, possuindo esta alta abrangência de habitats e conseguindo lidar com as variações que estas situações ambientais (como pH) proporcionam.

Já *Lepidonotothen nudifrons* e *Gobionotothen gibberifrons* não possuem uma distribuição Circum-Antártica, estando estas espécies presentes apenas na Península Antártica, Geórgia do Sul, Shetlands do Sul, Sandwich do Sul e Orkney do Sul. Estas duas espécies parecem possuir mais suscetibilidade à

variações ambientais, como o pH, sendo este fato a provável causa de estes organismos possuírem um hábitat mais restrito que *Notothenia neglecta*.

Outra hipótese é que esta variação de pH, ocorrendo apenas em um curto espaço de tempo (24h) não seja suficientemente significativa para ocasionar mudanças morfológicas no tecido renal desta espécie.

Como nos túbulos proximais dos teleósteos marinhos ocorre a entrada ativa de íons como Magnésio, Sulfato, Cálcio, Fósforo, Amônia, Creatina e entrada passiva de água (HICKMAN e TRUMP, 1969), estas substâncias devem estar em equilíbrio, permitindo que a *Notothenia neglecta* permaneça em homeostase, ao menos durante estas 24 horas, devido ao fato de não serem detectadas mudanças do ponto de vista histológico. Há a possibilidade de ocorrer mudanças imperceptíveis à morfologia, mas que seriam detectadas com um maior estudo bioquímico deste animal submetido à estas alterações de pH.

Quando as condições ambientais variam, os organismos procuram adaptar-se a estas modificações, podendo ser estas adaptações do tipo morfológico, histológico, genético, bioquímico e fisiológico, entre outros. Neste experimento verificou-se que a *Notothenia neglecta* parece lidar muito bem com as situações de variação de pH do mar, no tempo de 24 horas, não sofrendo quaisquer alterações morfológicas perceptíveis em seus túbulos renais para compensar estas alterações ambientais.

6. CONCLUSÃO

- ✓ O experimento de 24 horas não é suficiente para ocasionar mudanças morfológicas significativas nos túbulos renais de *N. neglecta*.
- ✓ As afinidades de cada túbulo com os distintos corantes são diferentes.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BEYENBACH, K.W. Secretory eletrolyte transport in renal proximal tubules of fich. In: WOOD, M.C.; SHUTTLEWORTH, T.J. **Cellular and Molecular Approxes to Fish Ionic Regulation**, Academic Press, p 85-103, New York, 1995.

BEYENBACH, K.W.; KIRSHNER L.B.; Kidney and urinary bladder functions of the rainbown trout in Mg and Na excretion. **Am. J. Phisiol**, Bethesda, v.229, p 389-393, 1975.

BROWN, D.J.A.; MORRIS, R.& GOLDTHORPE, S.A.; **Sublethal effects of acid water** 344-345. In: PICKARINS, A.D.[ED]. **Stress and Fish**. Academic Press, London, NY etc. pag.1-367, 1981

CAPOZOLI, U. **Antártida – A Última Terra**. São Paulo. Editora da Universidade de São Paulo, 1991

CROSSLEY, L. **Explore Antarctica**. Cambridge University Press. Melbourn Australian Antarctic Foundation, 112 p, 1995.

CULLING, C. F. A.; ALLISON, R. T.; BARR, W. T. **Cellular Pathology Technique**. 4 ed. London: Butler & Tanner Ltda, P.233-234. Cap. 12, 1985

DOBBS, G. H.; LIN, Y.; DE VRIES, A. L. Aglumeralism in Antartic Fish. **Science (Washington, DC)** v. 185, p.793-794, 1974.

DOBBS, G. H.; LIN, Y.; DE VRIES, A. L. Renal Function in Antartic Teleost Fishes: Shum and Urine Composition. **Mar. Biol.**, New York, v. 29, p.59-70, 1975.

EASTMAN, J. T. **Antartic Fish Biology: Evolution in a Unique Environment**. London: Academic Press, p. 322, 1993.

EASTMAN, J. T. Evolution and diversification of antartic notothenioid fishes. **Am. Zool.**, Lawrence, v.31, n.1, p. 93-109, 1991.

EASTMAN, J.; DeVRIES, A.L.; COALSON, R.E.; NORDQUIST, R.E.; BOYD, R.B. Renal Conservation of Antifreeze Peptide in Antartic *Eelpout Rhigophila dearboni*. **Nature**, London, vol. 282, 1979.

EASTMAN, J.; DeVRIES, A.L.; Renal Glomerular Evolution on Antarctic Notothenioid fish. **J. Fish Biol.**, London, v.29, p 649-662, 1986.

EKAU, W. Morphological Adaptations and Mode of Life in High Antarctic fish. In: PRISCO, G.; MARESCA, B.; TOTA, B. **Biology of Antarctic Fish**, Berlim, Springer-Verlag, p 23-29, 1991.

EVANS Osmotic and Ionic Regulation. In: EVANS, D.H. **The, Phisiology of fishes**, Marine Science Series, 1993

FISHER, W. & HUREAU, J. C. [Ed.] **FAO species identification sheets for fisheires purposes**. Southern Ocean. Vol. II. Rome: Food and Agriculure Organization of United Nations, 1985.

FOSTER, T. D. The marine environment. In.: LAWS, R. M. **Antartic Ecology**. London: Academic Press, 1984, v. 2, p. 345-371.

GORHAM, E. **Acid precipitation and its influence upon aquatic ecosystems – an overview**. Water, Air and Soil Pollution. v.6 p.457-481, 1976

GRAFFLIN, A.L.; Observations upon the aglomerular nature of certain teleostean kidneys. **J. Morphol.** v. 61, p 165-169, 1937

HEMPEL, G. **Antarctic Science Global Concerns**. Berlim. Springer-Verlag, 1994.

HIBIYA, T. **Atlas of Fish Histology. Normal and Pathological Feature**. Tokyo: Kodansha Ltda, 147p, 1982

HICKMAN, C.P.; TRUMP, B.F. The Kidney, In: In: HOAR, W.S.; RANDALL, D.J., **Fish Phisiol**. Academic Press, New York, p. 91-239, 1969.

KOCK, K. H. **Antartic fish and fisheries**. Cambridge : University Press, p. 359, 1992.

KULESZ, J. Seasonal Biology of *N. gibberifrons*, *N. rossi* and *T. newnesi*, as well as respiration of young fish of Admiralty Bay (King George, South Shetlands Islands). **Pol. Arch. Hydrobiol.** v.41, n°1, p 79-102, 1994.

LIMA, C.L.B.F.; REIS, N.S.; CECCARELLI, P.S. Estudo topográfico e histológico do rim de pacu *Piracatus mesopotamicus* Holmeberg, 1887 (Teleostei, Serrasalmidae). **B. Téc. CEPTA**. Pirassununga, v.6, n.2, p 41-52, 1993.

LOOMIS, T.A. e HAYES, A.W. **Loomis's essentials of toxicology**, London, Academic press, 1996, 4ª edição p. 48

LUTJEHARMS, J.R.E.; The Oceanography and fish distribution of the southernocean. In: GON, O.; HEEMSTRA, P.C. **Fishes of the Southern Ocean**. J.L.B. smith Institute of Ichthyology, p 6-27, 1990

MAIA, V. **Técnica Histológica**. 2ª Edição, São Paulo, Atheneu, p 204, 1979

MARSHALL, W.S. Transport Processe in Isolated Teleosts Ephetelia: Opercular Epithelium e Urinary Bladder. In: WOOD, M.C.; SHUTTLEWORTH, T.J. **Cellular and Molecular Aproches to Fish Ionico Regulation**. New York. Academic Pres, p 1-19, 1995.

MUIR, J.A.; ROBERTS, R.J.; **Recent advances in aquaculture**. Aquaculture. v.3, p. 225-287, 1988.

OGAWA, M.; FUKUCHI, M.; Comparative Studies on the Kidneys and Urinary Bladders of Antarctic teleosts. **Nihon Suisoan Gakkaishi**, Tokyo, v.54, n.11, p. 1919-1922, 1988.

OGURI, M. Kidney of the red batfish *Halieutaea stellata* as aglomerular type. **Nihon Suisoan Gakkaishi**, Tokyo, v.55, n.4, p. 743, 1989.

PHILLIPS, J.G. **Fisiologia Ecológica**. Madrid: H. Blume Ediciones, 1976

RIVKIN, R. B. & PUTT, M. Diel periodicity of photosynthesis in polar phytoplanton: influence on primary production. **Science (Washington DC)**, v. 238, p. 1285-1288, 1987.

SCHOFIELD, C.L.; **Acid precipitacion: effects and fish**. Ambio. v.5-6 p.228-230, 1976.